

Aktueller Kenntnisstand über die Ausscheidung von mRNA und Spike, die von Anti- COVID-19-mRNA-Impfstoffen produziert werden; Möglichkeit der Kontamination des Umfelds der Geimpften durch diese Produkte

Helene Banoun^{1*}

¹Pharmazeutischer Biologe, ehemaliger Inserm-Forscher, Mitglied des unabhängigen wissenschaftlichen Rates, Marseille 13000, Frankreich.

Abstrakt

Die massive COVID-19-Impfkampagne ist das erste Mal, dass mRNA-Impfstoffe auf globaler Ebene eingesetzt werden. Die mRNA-Impfstoffe entsprechen genau der Definition von Gentherapie der amerikanischen und europäischen Zulassungsbehörden. Die Vorschriften verlangen Ausscheidungsstudien für diese Medikamente und ihre Produkte (die übersetzten Proteine). Diese Studien wurden für mRNA-Impfstoffe nicht durchgeführt (auch nicht für Adenovirus-Impfstoffe). Es gibt zahlreiche Berichte über Symptome und Pathologien, die mit den unerwünschten Wirkungen von mRNA-Impfstoffen bei ungeimpften Personen identisch sind, die mit frisch geimpften Personen in Kontakt kommen. Es ist daher wichtig, den Wissensstand über die mögliche Ausscheidung von Impfstoff-Nanopartikeln sowie von mRNA und deren Produkt, dem Spike-Protein, zu überprüfen.

Impfstoff-mRNA-tragende Lipid-Nanopartikel verbreiten sich nach der Injektion im ganzen Körper, wie verfügbare Tierstudien zeigen, und Impfstoff-mRNA (nackt oder in Nanopartikeln oder in natürlichen Exosomen) findet sich im Blutkreislauf ebenso wie Impfstoff-Spike in freier Form oder eingekapselt in Exosomen (wie in Humanstudien gezeigt). Lipid-Nanopartikel (oder ihr natürliches Äquivalent, Exosomen oder extrazelluläre Vesikel (EVs)) können nachweislich über Körperflüssigkeiten (Schweiß, Sputum, Muttermilch) ausgeschieden werden und die transplazentare Barriere passieren. Diese EVs können auch durch Einatmen und durch die Haut (gesund oder verletzt) sowie oral über die Muttermilch (und warum nicht auch beim Geschlechtsverkehr über das Sperma, da dies nicht untersucht wurde) eindringen. Es ist dringend erforderlich, die für mRNA-Impfstoffe geltenden Rechtsvorschriften zur Gentherapie durchzusetzen und Studien zu diesem Thema durchzuführen, während die Verallgemeinerung von mRNA-Impfstoffen in Betracht gezogen wird.

Einführung

Warum interessieren wir uns für diese Hypothese, die vielleicht verschwörungstheoretisch anmutet? Der Ausdruck "vaccine shedding" bezieht sich klassischerweise auf die mögliche Ausscheidung eines Virus durch eine Person, die frisch gegen dieses Virus geimpft wurde; dies gilt nur für Impfstoffe mit abgeschwächten Lebendviren (Masern/Mumps/Röteln (MMR), Windpocken, Rotavirus, Influenza im Nasenspray).

Kein COVID-19-Impfstoff verwendet diese Formel. Daher besteht kein Risiko, dass ein Impfstoffempfänger ein Impfvirus überträgt. Allerdings sind mRNA-basierte COVID-19-Impfstoffe die ersten, die weltweit kommerziell beim Menschen eingesetzt werden, und es wurden keine Studien über die mögliche Ausscheidung des Impfstoffs selbst (Lipid-Nanopartikel, die mRNA enthalten), der Impfstoff-mRNA oder des Impfstoffprodukts, des von den Zellen des Impflings übersetzten Spike-Proteins, durchgeführt.

Die COVID-Impfung begann im Dezember 2020. Die erste veröffentlichte Aussage über Impfstoffausscheidungen, die ich gesehen habe, stammt vom Dezember 2021 und ist die von Dr. Ray Sahelian

[1]: Er berichtete von Fällen medizinischer oder wissenschaftlicher Kollegen, die nach dem Kontakt mit frisch geimpften Personen Symptome beobachtet hatten, die denen der unerwünschten Wirkungen des Impfstoffs nahe kamen; er schlug eine Ausscheidung der Impfstoffprodukte über die Haut und die Atemwege vor und forderte ergänzende Studien.

Anfangs erschien mir diese Art von Aussagen nicht sehr glaubwürdig, aber sie häuften sich, und im Oktober 2021 erhielt ich eine Aussage von einer Gruppe französischer Betreuer: Sie beobachteten einen Schlaganfall bei einem siebenjährigen Kind ohne Risikofaktoren, dessen Eltern frisch geimpft worden

waren. Es gibt Telegram-Gruppen mit Erfahrungsberichten von Patienten und Ärzten. Alle diese Aussagen beziehen sich auf Symptome oder Zustände, die in den Datenbanken für unerwünschte Wirkungen von COVID-19-Impfstoffen gemeldet wurden: Die unerwünschten Wirkungen von mRNA-Impfstoffen gegen COVID-19 werden inzwischen von den Aufsichtsbehörden anerkannt (siehe VAERS- und Eudravigilance-Datenbanken sowie die ANSM, Frankreich).

Die Impfstoffe basieren alle auf dem Spike-Protein, das inzwischen als Hauptverantwortlicher für die Pathogenität von SARS-CoV-2 anerkannt ist [2-6]. Falls der Impfstoff oder sein Produkt (das Spike-Protein) von Geimpften auf Ungeimpfte übergeht, sollten daher die unerwünschten Wirkungen des Impfstoffs bei einigen Ungeimpften, die mit Geimpften in Kontakt kommen, zu finden sein. Die Untersuchung von impfstoffbedingten Krankheiten bei nicht geimpften Altersgruppen, die mit geimpften Personen in Kontakt stehen, könnte Hinweise im Sinne einer Impfstoffausscheidung liefern, liefert jedoch keine signifikanten Ergebnisse (unveröffentlicht). Da es in den Datenbanken für Pharmakovigilanzmeldungen mehr als 400 Pathologien im Zusammenhang mit unerwünschten Impfstoffreaktionen gibt (siehe z. B. die Daten aus dem Vereinigten Königreich, Spontanmeldedaten für den Impfstoff von Pfizer im Mai 2021 [7]), verwässert diese große Zahl die Signale, die in nicht geimpften Altersgruppen auftreten könnten.

Andererseits zeigt eine Analyse europäischer, israelischer und US-amerikanischer Daten, dass für die nicht geimpfte Altersgruppe der 0- bis 14-Jährigen die meisten Zusammenhänge zwischen der Sterblichkeit und der Impfung bei Erwachsenen positiv sind: Die Übersterblichkeit in den nicht geimpften Altersgruppen zu Beginn der Impfkampagnen könnte durch ein Übertragungsphänomen des Impfstoffs oder seiner Produkte erklärt werden. Dieses Muster positiver Korrelationen nimmt von der Impfwoche bis zur Woche 18 nach der Impfung zu und verschwindet dann. Dies deutet auf indirekte negative Auswirkungen der Impfung von Erwachsenen auf die Sterblichkeit von Kindern im Alter von 0-14 Jahren in den ersten 18 Wochen nach der Impfung hin [8].

Wie ist die biologische Plausibilität der Übertragung des Impfstoffs oder seiner Produkte von Geimpften auf Ungeimpfte? Um diese Frage zu beantworten, müssen wir die Möglichkeit und die Wege der Ausscheidung des Impfstoffs oder seiner Produkte sowie die Wege ihres möglichen Eindringens untersuchen.

Was den Impfstoff und seine Produkte betrifft, so kann es sich um die Übertragung des zirkulierenden Spikes in den Geimpften (in freier Form oder in Exosomen oder EVs enthalten), die Übertragung der zirkulierenden nackten mRNA oder vollständiger Lipid-Nanopartikel (LNPs) handeln. Daher sollte die Fähigkeit von LNPs, mRNA und Impfstoffspitzen, auf verschiedenen möglichen Wegen ausgeschieden zu werden, und dann die Fähigkeit derselben Produkte, auf verschiedenen Wegen in den Körper von Ungeimpften, die in engem Kontakt mit Geimpften stehen, zu gelangen, untersucht werden.

Die Ausscheidung von mRNA-haltigen LNPs, die Ausscheidung von modifizierter Spike-kodierender mRNA und die Ausscheidung von Spikes, die von Impfungen produziert werden, wurden in der Testphase der Impfstoffe nicht untersucht, im Gegensatz zu den Empfehlungen der Regulierungsbehörden für Gentherapien. In pharmakokinetischen Studien zu Nanopartikeln wurde die Ausscheidung der Transporter oder der transportierten Moleküle im Allgemeinen nicht untersucht. Dieser Bereich sollte erforscht werden.

Aus Pfizer-Dokumenten, die durch FOIA [9] erlangt wurden, geht hervor, dass nur die Ausscheidung einiger Bestandteile der LNP (ALC-0315 und ALC-0159) im Urin und im Kot von Ratten, denen IM injiziert wurde, untersucht wurde.

Vorschriften über die Ausscheidung von Gentherapien durch Regulierungsbehörden

Vor der Einführung von RNA-Impfstoffen gab es keine Vorschriften für klinische Versuche mit mRNA, während für Gentherapieprodukte strenge Vorschriften gelten. Es ist schwer zu rechtfertigen, dass mRNA-Impfstoffe in Bezug auf diese Regulierung nicht mit Gentherapien gleichgesetzt werden; der einzige Unterschied besteht darin, dass sie vor einer Krankheit schützen und sie nicht heilen sollen. Gentherapien sind für eine kleine Anzahl von Menschen mit schlechtem Gesundheitszustand bestimmt, während Impfstoffe in großem Umfang bei gesunden Menschen eingesetzt werden: Es wäre daher sinnvoll, für sie strengere Regeln anzuwenden. Die Beschreibung der Gentherapieprodukte durch die Aufsichtsbehörden umfasst jedoch auch mRNA- und Adenovirus-Impfstoffe.

Das FDA-Dokument von 2015 über Studien zur Ausscheidung von Genprodukten [10] betrifft Gentherapien, die definiert sind als "alle Produkte, die ihre Wirkung durch Transkription und/oder

Translation von übertragenem genetischem Material und/oder durch Integration in das Wirtsgenom ausüben und in Form von Nukleinsäuren, Viren oder genetisch veränderten Mikroorganismen verabreicht werden". In diesem Sinne sind mRNA-Impfstoffe tatsächlich Gentherapieprodukte und hätten diesen Ausscheidungsstudien unterzogen werden müssen.

Für jeden VBGT (virus- oder bakterienbasierte Gentherapieprodukte) müssen Ausscheidungsstudien durchgeführt werden, zunächst an Tieren, aber auch an Menschen, insbesondere wenn das Risiko einer Übertragung auf unbehandelte Personen besteht. Gemäß diesem Dokument sind klinische Ausscheidungsstudien keine eigenständigen Studien, sondern werden in das Design einer Unbedenklichkeits- oder Wirksamkeitsstudie integriert. Der Begriff "Ausscheidung" bezieht sich auf die Freisetzung von VBGT-Produkten aus dem Patienten über einen oder alle der folgenden Wege: Fäkalien (Kot), Sekrete (Urin, Speichel, Nasopharyngealflüssigkeit usw.) oder über die Haut (Pusteln, Läsionen, Wunden).

Die NIH-Richtlinien [11] enthalten Grundsätze zur biologischen Sicherheit speziell für "synthetische Nukleinsäuremoleküle, einschließlich solcher, die chemisch oder anderweitig modifiziert sind, sich aber mit natürlich vorkommenden Nukleinsäuremolekülen paaren können"; dabei handelt es sich um Moleküle mit mehr als 100 Nukleotiden, die transkribiert oder übersetzt werden können. In diesem Dokument vom April 2019 geht es um modifizierte und nicht modifizierte synthetische Nukleinsäuren. Jedem Experiment, bei dem eine Nukleinsäure absichtlich auf einen Menschen übertragen wird, muss eine Genehmigung des institutionellen Ausschusses für biologische Sicherheit vorausgehen (was hier bestätigt wird [12]), aber diese Genehmigung wurde aufgrund der Notfallgenehmigung für mRNA-Impfstoffe nicht erteilt.

Auf der Grundlage eines EMA-Dokuments über die Ausscheidung von Genprodukten [13] entsprechen mRNA-Impfstoffe der Definition von GMTs (Gentherapieprodukte), aber ihre Bezeichnung als "Impfstoff" hat es ihnen ermöglicht, den Anforderungen an klinische Studien für Genprodukte zu entgehen, die sich insbesondere auf das Ausscheidungspotenzial, die Biodistribution, die Pharmakodynamik, die Genotoxizität und die Insertionsmutagenese beziehen (Seite 36: Pharmakokinetische Studien sollten durchgeführt werden, wenn ein Protein in den Blutkreislauf ausgeschieden wird). Die Expression der Nukleinsäuresequenz (ihre Übersetzung in ein Protein) sollte ebenfalls untersucht werden (Seite 37). Die Ausscheidung ist definiert als die Verbreitung des Vektors durch Sekrete und/oder Fäkalien und sollte in Tiermodellen untersucht werden (Seite 30).

Daher entsprechen mRNA-Impfstoffe nach den Vorschriften der amerikanischen und europäischen Behörden der Definition von

Gentherapieprodukte und sollten Ausscheidungsstudien mit allen sekretierten Flüssigkeiten (Urin, Speichel, Sputum, Nasopharyngealflüssigkeit, Sperma, Muttermilch), Fäkalien und Haut (gesund oder verletzt) unterzogen werden. Diese Studien hätten die Nanopartikel, die die mRNA enthalten, die nackte mRNA und das Produkt des Impfstoffs nach der Translation (das Spike-Protein) betreffen müssen.

Ein Beispiel für eine Ausscheidungsstudie, die dieser Regulierung von Genprodukten entspricht, findet sich in einem Bericht, der bei der EMA eingereicht wurde, um ein Medikament zur Behandlung einer seltenen Krankheit zuzulassen; es handelt sich um ein Produkt auf der Grundlage von LNPs mit einer Zusammensetzung, die der von mRNA-Impfstoffen ähnelt. Hier enthalten die LNPs siRNA. Im Gegensatz zu den mRNA-Impfstoffen, die ähnlich aufgebaut sind, verlangen die Vorschriften für diese Gentherapie umfangreiche Studien. Studien über die Ausscheidung dieser LNPs geben jedoch wenig Aufschluss. Bei Tieren findet sich die Radioaktivität der LNP im Urin (50 %) und in den Fäkalien (zwischen 10 und 24 %). Beim Menschen wurde keine Studie mit radioaktiven LNP durchgeführt, aber die Bestandteile der LNP werden im Urin in weniger als 1 % der Plasmakonzentrationen gefunden. Es wird angenommen, dass die Ausscheidung über die Fäkalien erfolgt, was jedoch nicht bewiesen ist. Es gibt keine Studien über die Ausscheidung in Milch oder anderen Körperflüssigkeiten [14].

Hinweis auf mögliche Impfstoffausscheidungen in Pfizer-Dokumenten

Das Protokoll für die Phase I/II/III-Studie von Pfizer mit COVID-19 mRNA-Impfstoffen (die im Mai 2020 begann) erwähnt die Möglichkeit der Übertragung des Studienprodukts durch Einatmen oder Hautkontakt und die Übertragung durch Sperma eines Mannes, der durch Einatmen oder Hautkontakt exponiert wurde, sowie die Möglichkeit einer unerwünschten Impfstoffreaktion aufgrund dieser Exposition [15]. Aus den Angaben von Pfizer geht eindeutig hervor, dass eine schwangere Frau "der untersuchten Intervention aufgrund einer Umweltexposition" ausgesetzt sein kann. Die Umweltexposition kann durch "Einatmen oder Hautkontakt" erfolgen. Beispiele für eine Umweltexposition während der

Schwangerschaft sind: -Ein weibliches Familienmitglied oder ein Gesundheitsdienstleister berichtet, dass sie schwanger ist, nachdem sie der Studienintervention durch Einatmen oder Hautkontakt ausgesetzt war. -Ein männliches Familienmitglied oder ein Gesundheitsdienstleister, der der Studienintervention durch Einatmen oder Hautkontakt ausgesetzt war, setzt seine Partnerin vor oder um den Zeitpunkt der Empfängnis herum der Studie aus. Dies bedeutet eindeutig, dass jeder Kontakt, einschließlich des sexuellen Kontakts mit jemandem, der die Impfstoffe erhalten hat, diejenigen, die die Impfstoffe nicht erhalten haben, der "Intervention", d. h. der mRNA, ausgesetzt. Auch eine Exposition während des Stillens musste während der Studie sofort gemeldet werden: Es wird davon ausgegangen, dass der Prüfer befürchtet, dass eine stillende Mutter die experimentelle mRNA auf ihr Baby übertragen könnte, wenn sie die Impfstoffe direkt erhalten hat oder wenn sie "der Studienintervention durch Einatmen oder Hautkontakt ausgesetzt ist."

Struktur und Funktion von extrazellulären Vesikeln (EVs) oder Exosomen und Lipid-Nanopartikeln (LNPs)

Natürliche extrazelluläre Vesikel (EVs oder Exosomen) werden von den meisten lebenden Zellen gebildet. Sie sind kugelförmige zweischichtige Proteolipide mit einer Größe von 20 bis 4.000 nm und können verschiedene Moleküle enthalten (Lipide, Proteine und Nukleinsäuren, wie z. B. signalgebende RNAs). EVs sind natürliche Träger im menschlichen Körper und sind an der interzellulären Kommunikation beteiligt. Sie können als Transporter für verschiedene Moleküle dienen, die so von Zelle zu Zelle gelangen können, was zu einer deutlichen Reaktion der Zielzelle führt [16]. Synthetische mRNA-Impfstoff-LNPs haben die gleiche Struktur wie die natürlichen Exosomen, die sie nachahmen sollen [17, 18]. Natürlich produzierte Exosomen können Spike- oder Impfstoff-mRNA tragen, wie unten beschrieben. LNPs haben die Fähigkeit (wie natürliche Exosomen), mit Zellmembranen zu verschmelzen und ihre

Fracht in das Zytosol freizusetzen.

LNPs, die für mRNA-Impfstoffe verwendet werden, sind Lipidsysteme in Nanogröße (weniger als 1 Mikrometer), die aus 2 oder mehr (normalerweise 4) Lipiden in unterschiedlichen Verhältnissen bestehen. Die typischste Lipidzusammensetzung, die für mRNA-LNP-Systeme verwendet wird, besteht aus einem kationischen/ionisierbaren Lipid, einem Phospholipid-"Helferlipid", Cholesterin und/oder einem mit Poly(ethylenglykol) (PEG) verbundenen Lipid. LNPs können IM, subkutan oder intradermal verabreicht werden,

intratracheal, oral, ophthalmisch und sogar topisch. LNP, die auf all diesen Wegen injiziert werden, sind in der Lage, die Umwandlung von mRNA in Protein über mehrere Tage hinweg anzutreiben [19]. Die Größe der LNP in COVID-19 mRNA-Impfstoffen liegt Berichten zufolge zwischen 60 und 100 nm [20].

Dieser Transport von EVs ist während der Schwangerschaft bidirektional (EVs überqueren die fetomaternale Barriere und Gebärmutterzellen sezernieren ständig Exosomen) und EVs können dazu verwendet werden, dem Fötus während der Schwangerschaft Medikamente zuzuführen [21].

EVs haben einen potenziellen Vorteil für den Einsatz in Impfstofftherapien, da sie die natürlichen Antigenträger des Körpers sind und in Körperflüssigkeiten zirkulieren können, um Antigene auch in entfernte Organe zu verteilen [16].

Über die Pharmakokinetik von mRNA-Impfstoffen ist wenig bekannt

Nanopartikel bei Tieren

Laut einer Studie von Forschern, die von den Herstellern der mRNA-Impfstoffe unabhängig sind, gelangen bei Mäusen mRNA-tragende LNPs, die IM injiziert wurden, von der Injektionsstelle in die Lymphknoten und dann in den systemischen Kreislauf, wobei sie sich vor allem in der Leber und der Milz ansammeln. LNPs gelangen zunächst in den Lymphkreislauf und dann in den Blutkreislauf (LNPs mit einer Größe von weniger als 200 nm gelangen direkt in die Lymphe, während diejenigen mit einer Größe zwischen 200 und 500 nm von dendritischen Zellen in die Lymphe transportiert werden). Eine unbeabsichtigte direkte Injektion in ein Blutgefäß kann auch bei einer intramuskulären (IM) Injektion erfolgen [22].

Nanopartikel beim Menschen

Die Exposition des menschlichen Körpers gegenüber Nanopartikeln kann unbeabsichtigt durch Einatmen, Hautkontakt oder Verschlucken erfolgen. Im Falle der Inhalation sind die möglichen Übertragungswege

von Nanopartikeln die Blutbahn (systemisch), die Lymphgefäße, der Magen-Darm-Trakt und das zentrale und/oder periphere Nervensystem [23].

Die Ausscheidung von PEG-beschichteten LNPs erfolgt in erster Linie über die Fäkalien und den Urin, und zwar hauptsächlich über die Fäkalien, wenn sie einen Durchmesser von mehr als 80 nm haben. LNPs können über Speichel, Schweiß und Muttermilch ausgeschieden werden [24].

LNPs mit einer Größe von weniger als 5 nm werden schnell über die Nieren ausgeschieden. Nanopartikel, die zwischen 5 und 200 nm groß sind, zirkulieren in der Regel lange im Blut. Größere LNP haben eine längere Blutzirkulation und werden kaum über die Nieren ausgeschieden. Aufgrund der Größe der LNP ist die Inhalation der direkteste Weg, um in das Lungensystem zu gelangen. Die Exposition kann beabsichtigt sein, wie im Fall von zielgerichteten oder therapeutischen Nanopartikeln, oder unbeabsichtigt durch Inhalation oder dermale Exposition, was auf die zunehmende Zahl industrieller Anwendungen von Nanopartikeln zurückzuführen ist [25].

Die mRNA

Persistenz der viralen mRNA nach viralen Infektionen. Die virale RNA einiger Viren persistiert für lange Zeit im Gehirn, in den Augen und in den Hoden: Dies wurde für das Masernvirus, das Ebolavirus, Zika und Marburg nachgewiesen. SARS-CoV-2 persistiert in den Atemwegen und im Verdauungstrakt. Virale RNAs werden auch in Sekreten, Blut oder Gewebe nachgewiesen. Eine anhaltende Ausscheidung dieser RNAs in den Atemwegen, im Stuhl, im Schweiß, in der Bindehautflüssigkeit und im Urin ist üblich. Studien haben gezeigt, dass virale RNA in voller Länge über einen langen Zeitraum hinweg persistieren kann. Diese persistierende RNA kann in Proteine übersetzt werden, auch wenn kein lebensfähiges Virus gebildet werden kann.

Bei Patienten, die später eine lange COVID entwickeln, wird in der akuten Phase der Krankheit virale RNA im Blut nachgewiesen [26]. **Verbleib der Impfstoff-mRNA.** Im Vergleich zur Zirkulation eines Virus während einer natürlichen Infektion werden riesige Mengen an mRNA injiziert: bis zu 10 bis 7 Mal mehr, so Professor Jean-Michel Claverie [27].

Die mRNA des Impfstoffs ist vom ersten Tag an vorhanden und verbleibt nach der Injektion mindestens zwei Wochen lang im Blutkreislauf; ihre Konzentration beginnt nach vier Tagen zu sinken. Diese Lebensdauer ist viel länger als von den Herstellern auf der Grundlage kurzer Studien an Ratten behauptet wurde. Die transportierte mRNA ist in den LNPs eingekapselt, befindet sich aber im Plasma (d. h. nicht in Verbindung mit weißen Blutkörperchen). Diese mRNA kann in anfälligen Zellen und Geweben in Spike-Protein übersetzt werden [28].

Die in LNPs verpackte mRNA kann aus den LNPs entweichen und extrazelluläre Vesikel bilden, die sie zu anderen Zellen transportieren: Diese Vesikel werden nach der Endozytose der mit mRNA beladenen LNPs sezerniert. Diese EVs schützen

die mRNA während des Transports und verteilen sie intakt an die Empfängerzellen, ist die mRNA funktionsfähig und kann dann in das gewünschte Protein übersetzt werden. Die Entzündungsreaktion ist nach der Transfektion mit EVs geringer als mit LNPs. Die Aufnahmewege von EVs unterscheiden sich von denen der LNPs und lösen wahrscheinlich nicht den autophagisch-lysosomalen Weg aus, da sie ihren Inhalt in das Zytoplasma freisetzen, ohne vermutlich lysosomal gefangen zu werden. Darüber hinaus können EVs aufgrund ihrer geringen Größe einer schnellen Phagozytose entgehen und RNA routinemäßig in den Blutkreislauf transportieren und abgeben, indem sie das Gefäßendothel zu den Zielzellen passieren [29].

Das Vorhandensein von extrazellulären Vesikeln ist in allen Bioflüssigkeiten nachgewiesen. Sie können Nukleinsäuren enthalten. Im Schweiß finden wir EVs mit Nukleinsäuren von Bakterien, Viren, Hautpilzen, aber auch von menschlichen Zellen. Diese EVs können auch Viren enthalten (z. B. Hepatitis C). In diesen Schweiß-EVs finden sich kleine mRNAs (20 bis 200 bp); sie sind funktionell (können übersetzt werden), die RNAs sind in den EVs vor Hautnukleasen geschützt [30].

Man beachte, dass die Impfstoff-RNA 4 284 Nukleotide umfasst (Pfizer) [31]. Daher sollte die Möglichkeit untersucht werden, dass RNAs dieser Größe über den Schweiß ausgeschieden werden.

EVs können "Signal"-Moleküle wie miRNAs enthalten. Es ist möglich, dass EVs mRNAs in voller Länge enthalten, die wichtige Mediatoren der intrazellulären Kommunikation sind. Die RNA-Analysen von Blut und Schweiß korrelieren miteinander: Die im Schweiß gefundenen EVs spiegeln die Zirkulation der EVs im Plasma wider. Nackte RNAs werden auch im Schweiß gefunden (nicht in EVs eingekapselt). MiRNAs werden selektiv ausgewählt und in Schweiß-EVs aus dem Blut angereichert und zirkulieren nicht passiv in Blut- oder Schweißfraktionen [32].

Nach der COVID-Impfung wurde eine verstärkte Schweißbildung festgestellt. [33] und Personen, die den Impfstoff erhalten haben, haben über vermehrtes Schwitzen geklagt, insbesondere nachts [34].

Die Möglichkeit der Absonderung extrazellulärer Vesikel aus der Haut wurde nachgewiesen: Keratinozyten sind in der Lage, extrazelluläre Vesikel auszuschleiden, die miRNAs tragen können. Bei der Psoriasis gehen die von Keratinozyten ausgeschleidenen EVs von Zelle zu Zelle über: von Keratinozyt zu benachbartem Keratinozyt. Bei Patienten mit Lichen planus (entzündlicher Hautausschlag) werden extrazelluläre Vesikel, die miRNAs tragen, mit dem Speichel ausgeschieden [35].

Nanopartikel sind natürlich im Sputum vorhanden [36]: RNA-haltige Exosomen wurden aus Sputum von Patienten mit leichtem Asthma isoliert [37]. **Übertritt von Impfstoff-mRNA in die Milch.** Impfstoff-mRNA wurde in der ersten Woche nach der Impfung mit mRNA-Impfstoff (entweder nach Dosis 1 oder Dosis 2) in der Milch von 1/10 der untersuchten Frauen (4/40) gefunden. Die Mengen können bis zu 2 ng/ml Milch erreichen [38]. Diese Menge mag im Vergleich zu den 30 Mikrogramm mRNA, die mit dem Impfstoff injiziert werden, gering erscheinen, kann aber ausreichen, um eine beträchtliche Menge an Spike zu erzeugen. Tatsächlich trinkt ein Säugling mehrere Male am Tag, insgesamt etwa 240 bis 360 ml pro Tag und in der ersten Woche insgesamt 1680 bis 2.520 ml. Ein Neugeborenes, das zwischen 2 und 5 kg wiegt, könnte also in seiner ersten Woche einer Dosis von 5 µg mRNA ausgesetzt sein. Dies erscheint unverhältnismäßig im Vergleich zu den 10 µg, die Kindern im Alter von 5 bis 11 Jahren injiziert werden, die jeweils etwa 18 bis 35 kg wiegen [39]. Die in der letztgenannten Studie verwendete Methode ist empfindlicher als die von Golan et al., die keine mRNA in der Milch fanden [40]. Dasselbe Team hatte auch den Übergang von Impfstoff-mRNA in die Milch untersucht, indem es indirekt nach PEG suchte, das in LNPs enthalten ist. In der Milch von 13 Frauen wurde zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Impfung nach PEG gesucht: **Abbildung 1** des Artikels zeigt den Nachweis von Impfstoff-PEG in der Milch zwischen 24 Stunden und einer Woche nach der Injektion. Die Autoren kamen jedoch zu dem Schluss, dass diese Mengen nicht signifikant waren [41].

In einer anderen Studie wurde untersucht, ob die mRNA des COVID-19-Impfstoffs in der Muttermilch gestillter Frauen, die innerhalb von sechs Monaten nach der Geburt geimpft wurden, nachgewiesen werden kann. Das Vorhandensein von mRNA wurde in freier Form und eingekapselt in extrazellulären Vesikeln untersucht. Die EVs wurden durch Zentrifugation der Milch isoliert.

Impfstoff-RNA wurde innerhalb von 48 Stunden nach der Impfung und in höheren Konzentrationen in EVs als in Vollmilch gefunden. Die höchste gefundene Konzentration betrug 17 pg/ml in EVs und die niedrigste 1,3 pg/ml in Vollmilch. Das vorrangige Vorhandensein von mRNA in EVs und nicht in Vollmilch könnte erklären, warum Golan et al. sie nicht gefunden haben [42].

Seit einigen Jahren ist bekannt, dass in extrazellulären Vesikeln verkapselte mRNA vor Magensaft geschützt ist und Darmzellen transfizieren kann [43, 44]. Eine kürzlich erschienene Übersichtsarbeit von Melnik und Schmitz bestätigt, dass Milch-EVs die extremen Bedingungen des Gastrointestinaltrakts überleben, durch Endozytose internalisiert werden, bioverfügbar sind, den Blutkreislauf erreichen und in periphere Gewebezellen eindringen [45].

Transplazentare Passage von Nanopartikeln? Bei Mäusen haben LNPs des gleichen Typs wie die in den COVID-19-mRNA-Impfstoffen verwendeten ihre Fähigkeit zur Transfektion von mRNA nach Injektion in eine fötale Vene oder in utero gezeigt [46].

Bei einem Versuch, Föten gegen neonatalen Herpes bei trächtigen Mäusen durch Injektion von mRNA-beladenen LNPs in die Mutter zu immunisieren, wird die Möglichkeit, dass die transplazentare Passage der LNPs sowohl die fetale Immunisierung als auch die mütterliche Passage von induziertem Ig erklären würde, nicht diskutiert [47].

Studien haben gezeigt, dass es sehr gut möglich ist, dass Nanopartikel vergleichbarer Größe, wie sie für mRNA-Impfstoffe verwendet werden, beim Menschen transplazentar passieren können [48, 49].

Die Verabreichung von LNP-basierten Therapien während der Schwangerschaft birgt Risiken, die untersucht werden sollten. Der Nachweis der transplazentaren Passage hängt von der Empfindlichkeit der Nachweismethoden ab: Bei einigen Arten von Nanopartikeln wurde Embryotoxizität festgestellt, während keine Absorption durch den Fötus beobachtet wurde; diese Absorption scheint nicht mit der Art, Größe oder elektrischen Oberflächenladung der Nanopartikel zu korrelieren. Die Translokation von Nanopartikeln hängt wahrscheinlich von den verschiedenen Stadien der Schwangerschaft ab. Während des ersten Trimesters ist die Plazentaschranke sehr dick, um den sich entwickelnden Embryo zu schützen, und wird zum Ende der Schwangerschaft dünner, wenn große Mengen an Nährstoffen für das Wachstum des Fötus benötigt werden. Bei Tieren scheint die Plazentaübertragung in der Frühschwangerschaft jedoch höher zu sein. Es besteht ein Bedarf an der Entwicklung menschlicher Modelle für Studien zum NP-Transfer in der Frühschwangerschaft. Ein Vergleich mit Tierstudien ist unerlässlich, da die Plazenta das

am stärksten artspezifische Organ ist [50, 51]. 240 nm große Nanopartikel sind in der Lage, die menschliche Plazentaschranke zu überwinden [52].

All diese Veröffentlichungen unterstreichen die Schwierigkeit, Tierstudien zur transplazentaren Passage von Nanopartikeln auf den Menschen zu extrapolieren. Aus einer Übersichtsarbeit von 2022 [53] geht hervor, dass Nanopartikel durch die üblichen plazentaren transzellulären Transportmechanismen wie Pinozytose, aktiver Transport, erleichterte Diffusion und passive Diffusion passieren können. RNA-Fracht-Exosomen sind ebenfalls in der Lage, die menschliche Plazentaschranke zu überwinden. PEG-beschichtete LNPs haben Berichten zufolge eine geringere Diffusion durch die Plazentaschranke als Liposomen-basierte Formulierungen, sind aber in der Lage, einen Teil ihrer Fracht an den Fötus abzugeben [54].

All diese Daten können nicht ausschließen, dass LNPs aus mRNA- Impfstoffen während der Schwangerschaft den Fötus einer geimpften Mutter erreichen können.

Ausscheidung von LNPs in die Spermien? Ich habe keine Studien über die Möglichkeit gefunden, dass LNPs in die Spermien übergehen; die Wirkung von Nanopartikeln auf die Fruchtbarkeit und die Spermienqualität wurde jedoch umfassend bei Tieren untersucht [55]. Die Toxizität von Nanopartikeln auf die männliche Fortpflanzungsfähigkeit ist bekannt, und es wurde gezeigt, dass Gold-Nanopartikel nur mit der Oberfläche von Spermien interagieren, aber nicht in sie eindringen. Es liegen keine Daten über das mögliche Eindringen von LNP in die Spermien vor.

Laut einem vertraulichen Pfizer-Dokument, das über die FOIA [56] in Erfahrung gebracht wurde und pharmakokinetische Studien an Ratten betrifft, konzentrieren sich LNP in den Eierstöcken und in geringerem Maße in den Hoden.

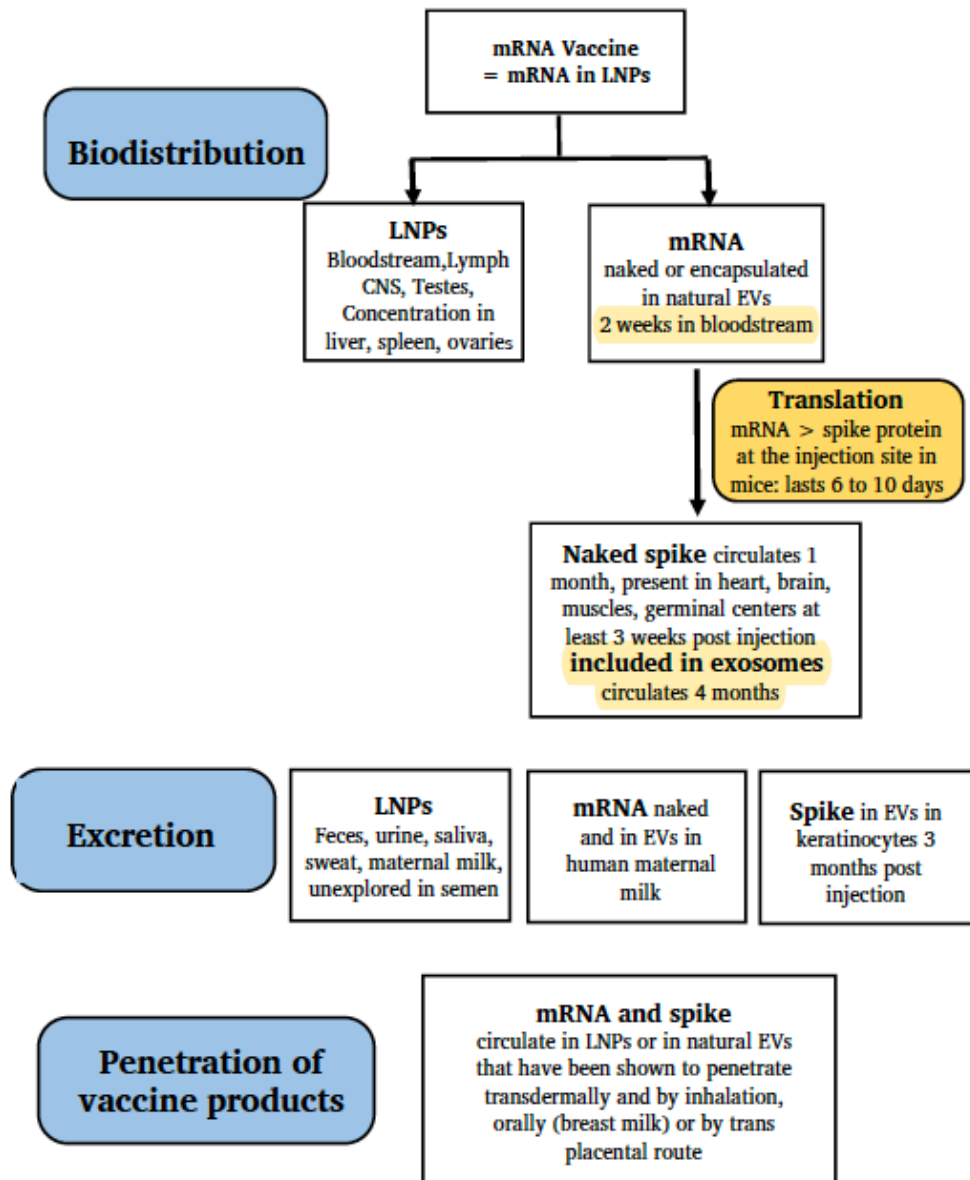


Figure 1 State of knowledge on excretion of mRNA vaccines

Verbleib des Spike-Proteins nach der mRNA-Übersetzung

Auf einer von der CDC gesponserten Nachrichtenseite, die am 21. Juli 2021 aufgerufen wurde, heißt es, dass die Lebensdauer von Spike im Blutkreislauf "unbekannt ist und einige Wochen betragen kann". [57]. Die Injektion von LNPs, die pseudouridin-modifizierte mRNA enthalten, per IM, subkutan und intradermal führt zu einer Proteinproduktion an der Injektionsstelle, wobei die Dauer der aktiven Translation bei Mäusen 6 bis 10 Tage beträgt. Die intradermale Injektion führt zu einer geringeren anfänglichen Proteinmenge, aber über einen längeren Zeitraum als die intrakutane Injektion. Bei der intradermalen Injektion ist die Halbwertszeit der Proteinproduktion im Vergleich zu anderen Injektionswegen (IM, subkutan, intravenös, peritoneal, intra-tracheal) am längsten. Bei der Verabreichung über die Injektionsnadel wurde der Großteil der Translation in der Leber am zweiten Tag nach der Injektion eingestellt, in den Muskeln dauerte sie jedoch bis zu acht Tage an [58].

Beim Menschen könnte das Spike-Protein lange in den Geimpften verbleiben, weshalb die Überwachung der unerwünschten Wirkungen des Impfstoffs ausgeweitet werden sollte [59]. Ein Vergleich der während der Krankheit und nach der Impfung erreichten Spike-Konzentrationen zeigt, dass während einer schweren COVID-19-Infektion eine mittlere Konzentration von 50 pg/ml mit Höchstwerten von 1 ng/ml beobachtet wird. Während einer schweren Covid-Infektion können Konzentrationen von bis zu 135 pg/ml S1-Spike

nachgewiesen werden, wobei die meisten Konzentrationen zwischen 6 und 50 pg/ml liegen. Nach einer Impfung mit einem mRNA-Impfstoff werden häufig Konzentrationen von bis zu 150 pg/ml beobachtet, die jedoch bei Personen mit impfstoffinduzierter Thrombozytopenie 10 ng/ml erreichen können [60].

Dasselbe Team [61] zeigt auch, dass das Spike-Protein in freier Form lange Zeit erhalten bleibt: Impfstoff-induzierte Spike-mRNA zirkuliert im Plasma bereits ab D1 nach der Impfung und bis zu 14 Tage lang, wobei der Spitzenwert bei D5 mit 68 pg/mL der S1- Untereinheit nachgewiesen wird; Spike in voller Länge wird bis D15 nachgewiesen, mit einem Spitzenwert von 62 pg/mL. Nach der zweiten Dosis wird freier Spike nicht mehr nachgewiesen, da er an Antikörper gebunden wäre; die Studie weist keine Antikörper-Spike- Immunkomplexe nach.

Ein anderes Team zeigte auch, dass nach der Impfung mit mRNA das Spike-Protein in den Blutkreislauf gelangt, mehr als eine Woche lang bestehen bleibt und innerhalb eines Monats vollständig eliminiert wird. Der Anstieg der Spike-Konzentration im Blut nach der Impfung erfolgt schnell (1 bis 3 Tage) [62].

Eine Autopsie ergab, dass Impfstoffspikes bis zu drei Wochen nach der Injektion in verschiedenen Organen (Herz, Gehirn, Muskeln, Keimzentren usw.) und insbesondere im Endothel der Kapillaren zu finden sind [63].

Spike-haltige Exosomen im Kreislauf

Nach einer COVID-19-Infektion zirkuliert Spike in Form von Exosomen. Exosomen werden unter normalen und pathologischen Bedingungen von Zellen in die extrazelluläre Umgebung freigesetzt. Exosomen sind ein wichtiges Instrument für die interzelluläre Kommunikation, da sie als Shuttles für die Übertragung biologisch aktiver Proteine, Lipide und RNA dienen. EVs können pathogene Proteine und/oder virale RNA-Fragmente aus infizierten Zellen aufnehmen, um Exosomen transportieren Material zu den Zielzellen, ein Vorgang, der bei Reaktionen auf Virusinfektionen eine wichtige Rolle spielt. Das SARS-CoV-2-S-Protein oder daraus abgeleitete Fragmente waren in den Exosomen von COVID-19-Patienten eindeutig vorhanden. Von SARS-CoV-2-S abgeleitete Fragmente sind in Exosomen von allen COVID-19-Patienten vorhanden [64].

Spike zirkuliert auch in Exosomen nach einer mRNA-Impfung beim Menschen. Die Autoren haben vorgeschlagen, dass nach der Internalisierung von LNP und der Freisetzung von mRNA die Antigensortierung und der Antigenverkehr die Freisetzung von S- Protein-haltigen Exosomen auslösen können. Die dargestellten Ereignisse würden an den apikalen und/oder basolateralen Oberflächen von polarisierten (z. B. epithelialen) Zellen stattfinden [65]. In der Tat wird der Impfstoffspike spontan in Exosomen oder extrazelluläre Vesikel eingeschlossen: Die Impfung mit mRNA und die Translation der mRNA induziert die Produktion von Exosomen, die das Spike-Protein tragen und 14 Tage nach der Injektion und bis zu 4 Monate nach der Impfung im Blut zirkulieren. Die Injektion dieser Exosomen in Mäuse induziert die Synthese von Antispike-Antikörpern [66].

Impfstoffspike wurde in Keratinozytenvesikeln der Hautendothelzellen eines Patienten mit Hautläsionen 3 Monate nach der Impfung mit Pfizer-BioNTech-Impfstoff gefunden. Dieser Patient hatte eine Varizella-Zoster-Virusinfektion. Eine plausible Hypothese war, dass die RNA-Stabilisierung durch Methyl-Pseudouridin- Substitution an allen Uridin-Nukleotiden für BNT162b2 zu einer langfristigen Produktion des kodierten Spikes aus jeder Zelle führen könnte, was die Mikroumgebung des schützenden Immunsystems, einschließlich der Haut, nachhaltig beeinflussen würde [67].

All diese Daten deuten darauf hin, dass Impfstoff-LNPs oder Exosomen, die sich auf natürliche Weise nach einer Impfung bilden, mRNA oder Spike enthalten und in Körperflüssigkeiten vorhanden sein könnten. Können diese Nanopartikel aus diesen Flüssigkeiten in den Körper von ungeimpften Personen gelangen, die mit frisch geimpften Personen in Kontakt kommen?

Die Fähigkeit von LNPs oder natürlichen extrazellulären Vesikeln (EVs oder Exosomen) und mRNA, über verschiedene Wege einzudringen

Verwendung von Nanopartikeln zu therapeutischen Zwecken durch Inhalation, transdermal, in utero, konjunktivale Route

In einer Übersichtsarbeit über die Sicherheit von Nanopartikeln in biomedizinischen Anwendungen erfuhren wir, dass eine Exposition gegenüber LNPs durch Verschlucken, Injektion, Einatmen und Hautkontakt erfolgen kann. Einige Expositionen sind unbeabsichtigt, wie z. B. die pulmonale Inhalation von NP in der Umwelt oder in Produktionsstätten [68].

Nanosysteme werden zunehmend für die topische und dermale Verabreichung genutzt, einschließlich therapeutischer Peptide, Proteine, Impfstoffe, Genfragmente oder Medikamententrägerpartikel [69]. Die intradermale Verabreichung von mRNA, die für den vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF) kodiert, führt nachweislich zu einer funktionellen Proteinexpression in der Haut, selbst wenn keine Lipid-Nanopartikel vorhanden sind [70]. Laut Palmer et al. [71] erhöhen Liposomen in einer Lipid-Nanopartikel-Formulierung die transdermale Passage von Molekülen, die zur Behandlung von Hautkrankheiten eingesetzt werden. Die Hautpenetration von siRNAs wurde in Form von Nanoträgern nachgewiesen; diese siRNAs transfizieren Zellen und exprimieren das gewünschte Zielgen. Nanoträger wurden für den Einsatz bei der transdermalen Impfung getestet [72].

Extrazelluläre Vesikel werden zur Verabreichung von anderen Therapien als Impfstoffen verwendet: klinische Studien laufen auf lokalem Wege (Periostitis, Geschwüre, Epidermolysis bullosa) und durch Inhalation (laufende Studie gegen die Alzheimer-Krankheit) [73]. Lipid-Nanopartikel mit einer Lipid-Doppelschicht sind in der Lage, die Hautbarriere zu überwinden und genetisches Material zu transportieren. Aufgrund ihrer Ähnlichkeit mit Zellmembranen können diese Partikel durch Haarfollikel in die Haut oder direkt in Keratinozyten eindringen [74].

Die intranasale, orale, intraokulare und subkonjunktivale Verabreichung von extrazellulären Vesikeln, die Arzneimittel tragen können, wurde erfolgreich getestet.

Die intranasale Verabreichung ist der am zweithäufigsten berichtete Weg. Auf diese Weise werden die Arzneimittel wirksam in das ZNS und in die Lunge transportiert. Die meisten schützenden Wirkungen wurden in ähnlicher Weise bei intravenöser und intranasaler Verabreichung erzielt. Die orale Verabreichung wurde für EVs aus Kuhmilch in einem Mausmodell beschrieben. Sechs Stunden nach der Verabreichung wurden die Vesikel in Leber, Herz und Milz lokalisiert,

Lunge und Nieren. Die intraokulare und subkonjunktivale Injektion von MSC-abgeleiteten EVs (Stammzellen) lieferte Vesikel an die Netzhaut in einem Kaninchenmodell für Diabetes-induzierte Retinopathie [75].

Natürlich von Pflanzen produzierte Nanovesikel sind morphologisch und funktionell identisch mit ihren Analoga bei Säugetieren. Eine Übersicht über pflanzliche Nanovesikel fasst das Wissen über die transdermalen, transmembranen und zielgerichteten Mechanismen dieser Vesikel zusammen. Experimente an Mäusen haben gezeigt, dass es möglich ist, RNA über diese intranasal eingebrachten Nanovesikel in einen Hirntumor einzubringen. Diese Nanovesikel wären auch in der Lage, ihre Fracht effizient durch die Haut und in die Hautzellen zu transportieren [76]. Lipid-Nanopartikel sind ein potenzieller Träger für die Verabreichung von Molekülen an die hintere Augenkammer: Sie haben hervorragende Permeationseigenschaften und penetrationsfördernde Fähigkeiten bewiesen, während sie gleichzeitig eine hohe Wirkstoffbeladung und Einschlusseffizienz aufweisen [77].

Nanopartikel in Versuchen zur Impfung und Gentherapie (LNPs mit Nukleinsäuren) über die Atemwege

Nukleinsäure-Nanopartikel sind in der Lage, Zellen der Atemwege bei Tieren und Menschen durch lokale Verabreichung (Instillation oder Vernebelung) zu transfizieren. Das Projekt DEFUSE [78], das von der Eco Health Alliance im Rahmen einer DARPA-Aufforderung zur Einreichung von Vorschlägen eingereicht wurde, befasst sich mit der transkutanen Verabreichung von Impfstoffen bei Tieren mithilfe von Nanopartikeln. Für therapeutische Zwecke wurde die LNP-Formulierung für die Lungenpenetration durch Inhalation optimiert, und es wurde nachgewiesen, dass die mRNA nach der Vernebelung in der Lunge effizient translatiert wird (Mausversuch) [79].

Der intranasale Weg wurde auch für die Impfung mit LNPs mit mRNA-Fracht sowie für die Gentherapie bei Mukoviszidose mit in LNPs eingekapselten mRNAs auf dem intranasalen Weg durch Instillation in die Nasenlöcher von Mäusen untersucht: Die mRNA transfiziert die Nasenzellen und exprimiert das gewünschte Protein in Zellen, die es aufgrund eines genetischen Defekts nicht exprimieren konnten [80].

Beim Menschen haben liposomale DNA-haltige Nanopartikel, die lokal durch Vernebelung verabreicht wurden, Atemwegszellen transfiziert. Eine kürzlich durchgeführte Phase-2b-Studie zur Verabreichung von CFTR-DNA unter Verwendung eines liposomalen Verabreichungssystems zeigte, dass nach wiederholten monatlichen Vernebelungen über einen Zeitraum von einem Jahr in der Mukoviszidose-Patientengruppe eine Stabilisierung der Lungenfunktion eintrat, während in der Placebogruppe ein Rückgang zu verzeichnen war [81].

Klinische Versuche zur Grippeprävention haben die Wirksamkeit und Sicherheit von inhalativen mRNA-Impfstoffen gezeigt: Nackte mRNA oder von Lipidpartikeln umhüllte mRNA (insbesondere auf PEG-Basis

wie bei den Anti-COVID-mRNA-Impfstoffen) kann als Aerosol eingeatmet werden und Lungenepithelzellen transfizieren [82]. In utero verabreichte Lipid-Nanopartikel-Formulierungen, die mRNA enthalten, können verwendet werden, um Mäuseföten mit mRNA zu versorgen, was zu einer Proteinexpression in der fötalen Leber, Lunge und im Darm führt [70].

Erprobung von LNPs für die transkutane Impfung

In einer Übersichtsarbeit [72] über die Möglichkeit einer transkutanen Impfung mit LNPs erfahren wir, dass die unbeschädigte menschliche Haut für Mikro- und Nanopartikel undurchlässig ist, dass es jedoch Hinweise auf eine gewisse dermale Penetration in lebensfähiges Gewebe (hauptsächlich im Stratum spinosum der Epidermis, aber möglicherweise auch in der Dermis) für sehr kleine Partikel (weniger als 10 nm) gibt. Bei Verwendung von Protokollen zur Penetration in intakte Haut gibt es für Partikel mit einer Primärgröße von etwa 20 nm und mehr keine schlüssigen Beweise für das Eindringen in lebensfähiges Gewebe. Für Haut mit beeinträchtigter Barrierefunktion, z. B. atopische Haut oder Haut mit Sonnenbrand, gibt es jedoch keine geeigneten Informationen. Es liegen einige Daten über Haut mit Schuppenflechte vor. Es gibt Hinweise darauf, dass

einige mechanische Effekte (z. B. Biegen) auf der Haut das Eindringen von Nanopartikeln beeinträchtigen können. Es hat sich jedoch gezeigt, dass sich Nanopartikel in Follikelöffnungen, Talgdrüsen oder Hautfalten ansammeln. Sowohl eine wässrige Suspension von Nanopartikeln als auch eine Hydrogel-Formulierung dieser Partikel, die in vitro auf die Haut des Schweineohrs aufgetragen wurden, drangen tief in die Haarfollikel ein. Diese Partikel können verschiedene eingekapselte Verbindungen freisetzen, die dann in die Haut eindringen. In der Literatur gibt es Hinweise darauf, dass der transfollikuläre Weg

verwendet: Die topische Anwendung von nackten Plasmid-Expressionsvektoren auf intakter Mäusehaut induzierte antigenspezifische Immunantworten. HBsAg-spezifische zelluläre und Antikörper-Reaktionen wurden in der gleichen Größenordnung ausgelöst wie bei der intramuskulären (IM) Injektion eines rekombinanten HBsAg-Polypeptid-Impfstoffs. Im Gegensatz dazu konnte bei Nacktmäusen keine Immunreaktion ausgelöst werden: das Vorhandensein normaler Haarfollikel war eine Voraussetzung für die Auslösung einer Reaktion. Die Partikel waren etwa 150 nm groß. LNPs in mRNA-Impfstoffen sind zwischen 100 und 400 nm groß [22].

Ein System, das klinisch transdermal getestet wurde, ist das DermaVir HIV-1/AIDS-Pflaster. Es enthält einen Plasmid-DNA-Impfstoff (pDNA), der für alle wichtigen HIV-1-Antigene und die Bildung virenähnlicher Partikel kodiert. Die pDNA ist in Form von mannosylierten Polyethylenimin-Nanopartikeln (80-400 nm) formuliert, die denen von Krankheitserregern ähneln. In dieser Studie wurden 12 Personen mit dem Impfstoff geimpft: Sie entwickelten im Vergleich zu Placebo eine höhere und breitere Anzahl von CD8⁺ T-Zellen, obwohl der Impfstoff keine Auswirkungen auf die Anzahl der CD4⁺ T-Zellen hatte [72].

Nackte RNA könnte auch durch Hautpassage und Inhalation verwendet werden RNA-Oligonukleotide können intakte Haut durchdringen und ihre biologische Aktivität beibehalten; die Penetration durch die Haut hängt nicht von der Größe des untersuchten Moleküls ab (12,5 bis 29,3 kDa) [83].

Die Machbarkeit von inhalierter RNA für die passive Transfektion wurde ebenfalls in einer Reihe von Studien nachgewiesen. Mechanistisch gesehen kann inhalierte RNA zur passiven Synthese nicht-infektiöser Spike-Proteine mit Hilfe von Zelltransfektionsmaschinen führen, was eine Immunisierung des Individuums zur Folge hat [84].

Therapeutische und Impfstoff-LNPs in COVID-19

Da es sich bei den Impfstoff-LNPs um synthetische Exosomen handelt, ist es nicht überraschend, dass COVID-Therapeutika und Impfstoffe mit natürlichen Exosomen als Vektoren getestet werden. Die Vernebelung von Exosomen zur Inhalationstherapie wurde gegen COVID-19 getestet. Derzeit laufen klinische Versuche zur Verabreichung von aerosolisierten antiviralen Therapien in EVs bei COVID-19. Derzeit laufen über sechzig klinische Studien zur Untersuchung der Wirkung von MSCs (mesenchymale Stammzellen) und EVs (die diese MSCs enthalten) bei COVID-19-Patienten. Eine klinische Studie der Phase 1 zur Bewertung der Sicherheit und Wirksamkeit von inhalierten Exosomen aus allogenen fetthaltigen MSC zur Behandlung von COVID-19-Pneumonien wurde bereits abgeschlossen. In drei klinischen Studien wurde ein Aerosol als Verabreichungsform verwendet [16]. Im Jahr 2022 zeigte sich die Wirksamkeit von MSC-Exosomen für die Vernebelungstherapie bei COVID-19-Patienten [85].

Natürliche Exosomen-Impfstoffe gegen SARS-CoV-2: pflanzlicher oder inhalativer Weg

Exosomen-Impfstoffe, die mRNA tragen, wurden gegen SARS-CoV-2 in Betracht gezogen [86]. Impfstoffversuche, bei denen Exosomen in den Fußballen von Mäusen injiziert wurden, zeigten eine Induktion von Antikörpern gegen Spike [87]. Spike-RBD-Exosomen (Nanopartikel) sind in der Lage, Antigen in Lungenzellen von Mäusen zu vernebeln und zu inhalieren und eine Immunantwort auszulösen. Es handelt sich um virusähnliche Partikel (virus like particles (VLP)), die auf natürliche Weise aus Lungenzellen gewonnen werden und RNA aus der Mutterzelle sowie verschiedene Proteine auf ihrer Oberfläche tragen [88]. Auch durch Inhalation können Exosomen, die mRNA oder Spike-Protein enthalten, Mäuse oder nichtmenschliche Primaten gegen SARS-CoV-2 immunisieren, wobei natürliche EVs wirksamer sind als synthetische EVs [89].

Die mögliche Neuinterpretation einer Studie könnte die Ausscheidung von Impfstoffen unterstützen

Die Wissenschaftler verglichen ungeimpfte Kinder, die bei ungeimpften Eltern leben, mit Kindern, die ebenfalls ungeimpft waren, aber bei geimpften Eltern lebten [90]. Die Kinder von geimpften Eltern haben Anti-COVID-IgG in der Nase, und der Unterschied zu den Kindern ungeimpfter Eltern ist signifikant. Die Autoren vermuten, dass dies auf eine Antikörperabgabe durch Tröpfchen zurückzuführen ist: Übertragen wird der IgG-Antikörper selbst in den Speicheltröpfchen. Es ist aber auch möglich, dass Kinder intranasales IgG entwickeln, weil andere Nebenprodukte des Impfstoffs oder Exosomen

von ihren geimpften Eltern ausgeschieden werden. Dies könnte auf Lipid-Nanopartikel der mRNA zurückzuführen sein, die über Speichel, Sputum oder Haut ausgeschieden und übertragen werden könnten. Die Kinder würden eine Immunantwort auf die Nanopartikel (oder Impfstoffnebenprodukte) entwickeln, anstatt dass IgG direkt von den Eltern auf die Kinder übertragen wird. Bei den gesuchten Antikörpern handelt es sich um IgG und IgA gegen die RBD des Spikes und nicht gegen das Nukleokapsid des Virus, was schade ist, da die Autoren beide Arten von Tests entwickelt haben [91]: Dies ermöglicht keine Unterscheidung zwischen Kindern, die auf natürliche Weise mit dem Virus infiziert worden wären (und Anti-RBD- und Anti-N-Antikörper hätten) und Kindern, die nach der Impfung ihrer Eltern Antikörper entwickelt hätten (und nur Anti-RBD und kein Anti-N hätten, weil sie nicht durch den Impfstoff induziert wurden).

Schlussfolgerung

Es gibt zahlreiche Berichte von nicht geimpften Personen, die nach dem Kontakt mit frisch geimpften Personen Symptome zeigten, die mit den unerwünschten Wirkungen des Impfstoffs identisch waren. Eine Studie zeigt, dass zu Beginn von Impfkampagnen die Sterblichkeit in den nicht geimpften Altersgruppen überdurchschnittlich hoch ist, was auf ein Phänomen der Übertragung des Impfstoffs oder seiner Produkte zurückzuführen sein könnte.

Es ist wichtig, diese Aussagen nicht zu vernachlässigen, da die erforderlichen Studien zur Pharmakokinetik und insbesondere zur Ausscheidung des Impfstoffs und seiner Produkte trotz der geltenden Vorschriften für Gentherapien, die mRNA-Impfstoffe gemäß der Definition dieser Genprodukte einschließen, nicht durchgeführt wurden. Darüber hinaus schaffen die Zweifel an der möglichen Übertragung des Impfstoffs ein ungesundes Klima des Misstrauens der Nichtgeimpften gegenüber den Geimpften: eine Klärung wäre daher zu begrüßen.

Die Impfstoffe basieren alle auf dem Spike-Protein, das inzwischen als Hauptverantwortlicher für die Pathogenität des SARS-CoV-2-Virus erkannt wurde: Wenn eine Übertragung des Impfstoffs oder des Spikes möglich ist, ist es logisch, dass die unerwünschten Wirkungen des Impfstoffs bei nicht geimpften Personen, die mit geimpften Personen in Kontakt kommen, auftreten.

Über die Pharmakokinetik des Impfstoffs ist wenig bekannt. Impfstoff-LNPs sind den natürlichen EVs oder Exosomen sehr ähnlich, deren Struktur und Funktion die Wissenschaftler so gut wie möglich nachzuahmen versuchen. Nach den wenigen Studien, die von Herstellern und unabhängigen Forschern durchgeführt wurden, zirkulieren mRNA-Impfstoff-LNPs im Blut und reichern sich in der Milz und der Leber von Mäusen an (und in geringerem Maße in vielen Organen wie Eierstöcken und Hoden, Knochenmark usw.). Die Umwandlung in Spike-Protein hält bei Mäusen 6 bis 10 Tage an der Injektionsstelle und 8 Tage in den Muskeln an.

Der Ausscheidungsweg von LNPs variiert je nach ihrer Größe, im Falle von LNPs von mRNA-Impfstoffen sollte die Ausscheidung hauptsächlich über die Fäkalien, aber auch über den Urin erfolgen. Die

quantitativen Ergebnisse dieser Studien legen nahe, dass andere Ausscheidungswege als Kot und Urin erforscht werden sollten. Frühere Studien zu mRNA-Impfstoffen deuten darauf hin, dass die Ausscheidung von EV über Speichel, Schweiß und Muttermilch möglich ist.

Studien haben gezeigt, dass es sehr gut möglich ist, dass Nanopartikel von vergleichbarer Größe wie die für mRNA-Impfstoffe verwendeten beim Menschen transplazentar passieren können. Natürliche Nanopartikel (EVs) sind von Natur aus in allen Körperflüssigkeiten (einschließlich Sputum, Speichel und Schweiß) und in Keratinozyten vorhanden und können Nukleinsäuren tragen, die somit vor Nukleasen geschützt sind. Bestimmte Arten von RNA (miRNAs) werden selektiv ausgewählt und in Schweiß-EVs aus Blut angereichert. Es wurden keine Studien über die Möglichkeit der Passage von LNPs in das Sperma gefunden; angesichts der Biodistribution in allen Organen und Flüssigkeiten ist eine solche Passage a priori möglich und sollte untersucht werden.

Die virale RNA vieler Viren findet sich in Blut, Sekreten und

Geweben. Die mRNA des Impfstoffs wird in Mengen injiziert, die um Größenordnungen größer sind als die virale RNA, die während der natürlichen Infektion produziert wird. Diese mRNA findet sich bereits am ersten Tag nach der Injektion im Blut und verbleibt bis zu 15 Tage lang. Sie ist in der Lage, aus LNPs zu entkommen und in EVs eingekapselt zu werden, sie ist funktional und kann in Protein übersetzt werden. Nackte oder in EVs eingekapselte Impfstoff-mRNA wird innerhalb der ersten Woche nach der Injektion in der Muttermilch gefunden; sie ist vor Magensäften geschützt und kann neonatale Zellen transfizieren.

In EVs eingebettete oder sogar nackte RNA ist in der Lage, Zellen durch Inhalation oder transdermale Passage zu transfizieren. Die intranasale, orale, transdermale, intraokulare und subkonjunktivale Verabreichung von extrazellulären, arzneimitteltragenden Vesikeln wurde getestet: LNPs können durch die Haut, intranasal, intrakonjunktival und durch Inhalation verabreicht werden; Experimente haben gezeigt, dass die in diesen LNPs enthaltene mRNA in der Lage ist, Zellen zu transfizieren. Impfstoffversuche gegen COVID durch Inhalation von EVs, die mRNA oder Spike-Protein enthalten, haben bei Mäusen und nichtmenschlichen Primaten positive Ergebnisse gezeigt. Natürliche EVs sind wirksamer als synthetische EVs.

Das aus der mRNA des Impfstoffs übersetzte Spike-Protein verbleibt monatelang in großen Mengen in den geimpften Personen; es befindet sich in freier Form im Plasma und eingekapselt in EVs, die sich spontan aus den Zellen bilden, in denen Spike produziert wurde. Diese EVs können ihre Ladung an verschiedene Zelltypen abgeben, insbesondere an fötale Zellen geimpfter Mütter. Spike kann in Keratinozyten der Haut gefunden werden.

Speziell gegen Coronaviren haben Gentherapie- und Impfstoffversuche (vor allem mit mRNA) gezeigt, dass es möglich ist, Zellen transkutan, nasal und durch Vernebelung aus LNPs und sogar aus nackter mRNA zu transfizieren. Spike- oder mRNA RBD-Vektor-Exosomen wurden durch Inhalation bei Tieren zur Anti-COVID-19-Immunisierung getestet.

All diese Studien zeigen, dass EVs, die mRNA und Spike tragen, mit verschiedenen Körperflüssigkeiten ausgeschieden werden und auf transkutanem oder inhalativem Weg in ungeimpfte Personen eindringen könnten (sowie über die Muttermilch bei Säuglingen und über die transplazentare Passage bei Föten und warum nicht auch über Sperma). Nackte mRNA könnte auch ausgeschieden werden und in den Körper gelangen.

Die mRNA- (und Adenovirus-) Impfstoffe entsprechen genau der Definition der Gesundheitsbehörden (FDA, NIH und EMA) für Gentherapie. Nach den Vorschriften dieser Behörden sollten diese Produkte dringend zusätzlichen pharmakokinetischen Studien (insbesondere Ausscheidungsstudien) unterzogen werden, wenn sich die mRNA-Technologie in großem Umfang durchsetzt. So hat Sanofi eine klinische Studie mit dem ersten mRNA-basierten saisonalen Grippeimpfstoffkandidaten gestartet [92], Moderna eine Phase-3-Studie mit einem mRNA-Grippeimpfstoff [93]. Für diese Grippeimpfstoffe sollte keine Notfallzulassung beantragt werden, und die Anforderungen für diese zusätzlichen Studien sollten nicht überschritten werden.

Referenzen

1. Nebenwirkungen des Covid-Impfstoffs Ray Sahelian. <https://raysahelian.com/covidvaccinesideeffects.html> Zugriff am 3. November 2022
2. Moghaddar M, Radman R, Macreadie I. Schweregrad, Pathogenität und Übertragbarkeit der Delta- und Lambda- Varianten von SARS-CoV-2, Toxizität des Spike-Proteins und Möglichkeiten zur künftigen Prävention von COVID-19. *Microorganisms* 2021;9(10):2167. <http://doi.org/10.3390/microorganisms9102167>

3. Almehdhi AM, Khoder G, Alchakee AS, Alsayyid AT, Sarg NH, Soliman SSM. SARS-CoV-2-Spike-Protein: Pathogenese, Impfstoffe und mögliche Therapien. *Infektion* 2021;49(5):855-876. <http://doi.org/10.1007/s15010-021-01677-8>
4. Lei Y, Zhang J, Schiavon CR, et al. SARS-CoV-2 Spike-Protein beeinträchtigt die Endothelfunktion durch Herunterregulieren von ACE 2. *Circ Res* 2021;128(9):1323-1326. <http://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318902>
5. Letarov AV, Babenko VV, Kulikov EE. Freie SARS-CoV-2-Spike- Protein-S1-Partikel spielen möglicherweise eine Rolle bei der Pathogenese der COVID-19-Infektion. *Biochemie Moskau* 2020;86(3):257-261. <http://doi.org/10.1134/S0006297921030032>
6. Gao X, Zhang S, Gou J, et al. Spike-mediated ACE2 down-regulation was involved in the pathogenesis of SARS-CoV-2 infection. *J Infection* 2022;85(4):418-427. <http://doi.org/10.1016/j.jinf.2022.06.030>
7. Coronavirus-Impfstoff - Zusammenfassung der Yellow-Card- Meldungen. <https://www.gov.uk/government/publications/coronavirus-co-vid-19-vaccine-adverse-reactions/coronavirus-vaccine-summary-of-yellow-card-reporting#annex-1-vaccine-analysis-print> Abgerufen am 3. November 2022
8. Pantazakos S, Seligmann H. COVID-Impfung und altersstratifizierte Gesamtmortalität Sterblichkeit Risiko. https://www.researchgate.net/publication/355581860_COVID_vaccination_and_age-stratified_all-cause_mortality_risk Abgerufen 2021
9. Internet Archive. [https://archive.org/details/pfizer-confidential-translated_SARS-CoV-2_mRNA-Impfstoff_\(BNT162, PF-07302048\)_2.6.4_Zusammenfassung_Erklärung_von_der_pharmakokinetischen_übersetzt.pdf](https://archive.org/details/pfizer-confidential-translated_SARS-CoV-2_mRNA-Impfstoff_(BNT162, PF-07302048)_2.6.4_Zusammenfassung_Erklärung_von_der_pharmakokinetischen_übersetzt.pdf) Abgerufen am 3. November 2022
10. Entwurf und Analyse von Shedding-Studien für virus- oder bakterienbasierte Gentherapie und onkolytische Produkte. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/design-and-analysis-shedding-studies-virus-or-bacteria-based-gene-therapy-and-oncolytic-products> Abgerufen am 3. November 2022
11. NIH-RICHTLINIEN FÜR FORSCHUNG MIT REKOMBINANTEN ODER SYNTHETISCHEN NUKLEINSÄUREMOLEKÜLEN (NIH-RICHTLINIEN) APRIL 2019 https://osp.od.nih.gov/wp-content/uploads/NIH_Guidelines.pdf Abgerufen am 3. November 2022
12. mRNA Clinical trials: key regulatory considerations. <https://www.advarra.com/blog/mrna-clinical-trials-key-regulatory-considerations/> Accessed November 3, 2022
13. Europäische Arzneimittel-Agentur. Leitlinie über die Qualität sowie die nichtklinischen und klinischen Aspekte von Gentherapeutika. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-non-clinical-clinical-aspects-gene-therapy-medicinal-products_de.pdf Zugriff am 3. November 2022
14. Ausschuss für Humanarzneimittel (CHMP) Bewertungsbericht , Onpattro , Internationaler Freiname: patisiran Verfahren Nr. EMEA/H/C/004699/0000. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/onpattro-epar-public-assessment-report_.pdf Veröffentlicht am 26. Juli 2018 Zugriff am 3. November 2022
15. Pfizer. Eine placebokontrollierte, randomisierte, beobachterverblindete Dosisfindungsstudie der Phase 1/2/3 zur Bewertung der Sicherheit, Verträglichkeit, Immunogenität und Wirksamkeit von SARS-CoV-2-RNA-Impfstoffkandidaten gegen Covid-19 bei gesunden Personen. https://cdn.pfizer.com/pfizercom/2020-11/C4591001_Clinical_Protocol_Nov2020.pdf Zugriff am 3. November 2022
16. Machhi J, Shahjin F, Das S, et al. A role for extracellular vesicles in SARS-CoV-2 therapeutics and prevention. *J Neuroimmune Pharmacol* 2021;16(2):270-288. <http://doi.org/10.1007/s11481-020-09981-0>
17. Aday S, Hazan-Halevy I, Chamorro-Jorganes A, et al. Bioinspirierte künstliche Exosomen auf der Grundlage von Lipid-Nanopartikeln, die let-7b-5p tragen, fördern die Angiogenese in vitro und in vivo. *Mol Ther* 2021;29(7):2239- 2252. <http://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.03.015>
18. Exosomen - das Gute, das Schlechte, das Hässliche und der aktuelle Stand. <https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/575432-Exosomes-The-Good-Bad-Ugly-and-Current-State> / Veröffentlicht am 26. April 2021, abgerufen am 3. November 2022

19. Pilkington EH, Suys EJA, Trevaskis NL, et al. From influenza to COVID-19: lipid nanoparticle mRNA vaccines at the frontiers of infectious diseases. *Acta Biomater* 2021;131:16-40. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2021.06.023>
20. Schoenmaker L, Witzigmann D, Kulkarni JA, et al. mRNA- Lipid-Nanopartikel-Impfstoffe COVID-19: Struktur und Stabilität. *Int J Pharm* 2021;601:120586. <http://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120586>
21. Shepherd MC, Radnaa E, Tantengco OA, et al. Extrazelluläre Vesikel aus mütterlichen Gebärmutterzellen, die Risikofaktoren ausgesetzt sind, verursachen eine fötale Entzündungsreaktion. *Zelle Commun Signal* 2021;19(1):100. <http://doi.org/10.1186/s12964-021-00782-3>
22. Di J, Du Z, Wu K, et al. Biodistribution and non-linear gene expression of mRNA LNPs affected by delivery route and particle size. *Pharm Res* 2022;39(1):105-114. <http://doi.org/10.1007/s11095-022-03166-5>
23. Brohi RD, Wang L, Talpur HS, et al. Toxicity of nanoparticles on the reproductive system in animal models: a review. *Front Pharmacol* 2017;8:606. <http://doi.org/10.3389/fphar.2017.00606>
24. Li M, Al-Jamal KT, Kostarelos K, Reineke J. Physiologically based pharmacokinetic modeling of nanoparticles. *ACS Nano* 2010;4(11):6303-6317. <http://doi.org/10.1021/nn1018818>
25. Zhao Y, Sultan D, Liu Y. 2-Biodistribution, Ausscheidung und Toxizität von Nanopartikeln. *Theranostic Bionanomaterials* 2019;27-53. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-815341-3.00002-X>
26. Griffin DE. Warum persistiert virale RNA manchmal nach der Erholung von akuten Infektionen? *PLoS Biol* 2022;20(6):e3001687. <http://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001687>
27. Les vaccins a ARN messagers (ARNm) sont-ils surdoses ? <https://tkp.at/wp-content/uploads/2022/05/Jean-Michel-Clav-erie.pdf> Abgerufen am 3. November 2022
28. Fertig TE, Chitoui L, Marta DS, et al. Vaccine mRNA can be detected in blood at 15 days post-vaccination. *Biomedicines* 2022;10(7):1538. <http://doi.org/10.3390/biomedicines10071538>
29. Maugeri M, Nawaz M, Papadimitriou A, et al. Linkage between endosomal escape of LNP-mRNA and loading into EVs for transport to other cells. *Nat Commun* 2019;10(1):4333. <http://doi.org/10.1038/s41467-019-12275-6>
30. Bart G, Fischer D, Samoylenko A, et al. Characterization of nucleic acids from extracellular vesicle-enriched human sweat. *BMC Genomics* 2021;22(1):425. <http://doi.org/10.1186/s12864-021-07733-9>
31. Reverse Engineering des Quellcodes des BioNTech/Pfizer SARS- CoV-2-Impfstoffs. <https://berthub.eu/articles/posts/reverse-engineering-source-code-of-the-biontech-pfizer-vaccine/> Veröffentlicht am 25. Dezember 2020, abgerufen am 3. November 2022
32. Karvinen S, Sievänen T, Karppinen JE, et al. MicroRNAs in extrazellulären Vesikeln im Schweiß verändern sich als Reaktion auf Ausdauertraining. *Front Physiol* 2020;11:676. <http://doi.org/10.3389/fphys.2020.00676>
33. Packungsbeilage: Informationen für den Empfänger , COVID-19 mRNA-Impfstoff BNT162b2 Konzentrat zur Herstellung einer Injektionslösung tozinameran. https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/1043779/Temporary_Authorisation_Patient_Information_BNT162_18_o_UK_Clean.pdf Zugriff am 3. November 2022
34. Sollte ich nach der COVID-Impfung schwitzen? <https://wicked sheets.com/night-sweats/should-i-sweat-after-m-y-covid-vaccine/> Published June 1, 2021 Accessed November 3, 2022
35. Shao S, Fang H, Li Q, Wang G. Extracellular vesicles in inflammatory skin disorders: from pathophysiology to treatment. *Theranostics* 2020;10(22):9937-9955. <http://doi.org/10.7150/thno.45488>
36. Bar-Shai A, Rotem M, Shenhar-Tsarfaty S, Ophir N, Fireman E. Nanoparticles in sputum - a new window to airway inflammation. *Eur Respir J* 2017;50:PA1008. <http://doi.org/10.1183/13930003.congress-2017.PA1008>
37. Sánchez-Vidaurre S, Eldh M, Larssen P, et al. RNA-haltige Exosomen in induziertem Sputum von Asthmapatienten. *J Allergy Clin Immunol* 2017;140(5):1459-1461. <http://doi.org/10.1016/j.jaci.2017.05.035>
38. Low JM, Gu Y, Ng MSF, et al. Codominante IgG- und IgA- Expression mit minimaler Impfstoff-mRNA in der Milch von BNT162b2-Impfenden. *NPJ Vaccines* 2021;6(1):105. <http://doi.org/10.1038/s41541-021-00370-z>

39. Neue Wachstumskurven für französische Jungen, Französischer Verband für ambulante Pädiatrie, Nouvelles courbes de croissance des garçons français, Association Française de Pédiatrie Ambulatoire. <https://afpa.org/outil/courbes-de-croissance-garcons-francais/> Zugriff am 3. November 2022
40. Golan Y, Prahl M, Cassidy A, et al. Evaluation of messenger RNA from COVID-19 BTN162b2 and mRNA-1273 vaccines in human milk. *JAMA Pediatr* 2021;175(10):1069. <http://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2021.1929>
41. Golan Y, Prahl M, Cassidy AG, et al. COVID-19 mRNA-Impfung in der Stillzeit: Bewertung von unerwünschten Ereignissen und impfstoffbezogenen Antikörpern bei Mutter-Kind-Dyaden. *Front Immunol* 2021;12:777103. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2021.777103>
42. Hanna N, Heffes-Doon A, Lin X, et al. Nachweis von Boten-RNA COVID-19-Impfstoffen in menschlicher Muttermilch. *JAMA Pediatr* Veröffentlicht online 26. September 2022. <http://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2022.3581>
43. Kahn S, Liao Y, Du X, Xu W, Li J, Lönnnerdal B. Exosomal microRNAs in Milch von Müttern, die Frühgeborene entbinden, überleben in vitro Verdauung und werden von menschlichen Darmzellen aufgenommen. *Mol Nutr Food Res* 2018;62(11):1701050. <http://doi.org/10.1002/mnfr.201701050>
44. Lönnerdal B, Du X, Liao Y, Li J. Human milk exosomes resist digestion in vitro and are internalized by human intestinal cells. *FASEB J* 2015;29(S1). http://doi.org/10.1096/fasebj.29.1_supplement.121.3
45. Melnik BC, Schmitz G. Milk exosomal microRNAs: postnatal promoters of β cell proliferation but potential inducers of β cell de-differentiation in adult life. *Int J Mol Sci* 2022;23(19):11503. <http://doi.org/10.3390/ijms231911503>
46. Riley RS, Kashyap MV, Billingsley MM, et al. Ionisierbare Lipid- Nanopartikel für die in utero mRNA-Übertragung. *Sci Adv* 2021;7(3):eaba1028. <http://doi.org/10.1126/sciadv.aba1028>
47. LaTourette PC II, Awasthi S, Desmond A, et al. Schutz gegen Herpes-Simplex-Virus-Typ-2-Infektion in einem neonatalen Mäusemodell unter Verwendung eines trivalenten nukleosidmodifizierten mRNA in Lipid-Nanopartikel- Impfstoffs. *Vaccine* 2020;38(47):7409-7413. <http://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.09.079>
48. Kulvietis V, Zalgeviene V, Didziapetriene J, Rotomskis R. Transport of nanoparticles through the placental barrier. *Tohoku J Exp Med* 2011;225(4):225-234. <http://doi.org/10.1620/tjem.225.225>
49. Saunders M. Transplazentarer Transport von Nanomaterialien. *WIREs: Nanomed Nanobiotech* 2009;1(6):671-684. <http://doi.org/10.1002/wnan.53>
50. Muoth C, Aengenheister L, Kucki M, Wick P, Buerki-Thurnherr T. Der Transport von Nanopartikeln durch die Plazentaschranke: ein Fortschritt! *Nanomedicine* 2016;11(8):941- 957. <http://doi.org/10.2217/nnm-2015-0012>
51. Keelan JA, Leong JW, Ho D, Iyer KS. Therapeutische und sicherheitstechnische Überlegungen zur Verabreichung von Arzneimitteln durch Nanopartikel in der Schwangerschaft. *Nanomedicine* 2015;10(14):2229-2247. <http://doi.org/10.2217/nnm.15.48>
52. Wick P, Malek A, Manser P, et al. Barrierefähigkeit der menschlichen Plazenta für nanoskalige Materialien. *Environ Health Perspect* 2010;118(3):432-436. <http://doi.org/10.1289/ehp.0901200>
53. Bertozzi S, Corradetti B, Seriau L, et al. Nanotechnologien in der Geburtshilfe und Krebs während der Schwangerschaft: eine Übersichtsarbeit. *J Pers Med* 2022;12(8):1324. <http://doi.org/10.3390/jpm12081324>
54. Soininen SK, Repo JK, Karttunen V, Auriola S, Vähäkangas KH, Ruponen M. Human placental cell and tissue uptake of doxorubicin and its liposomal formulations. *Toxicol Lett* 2015;239(2):108-114. <http://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.09.011>
55. Falchi L, Khalil WA, Hassan M, Marei WFA. Perspektiven der Nanotechnologie in der männlichen Fruchtbarkeit und Spermienfunktion. *Int J Vet Sci Med* 2018;6(2):265-269. <http://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.09.001>
56. SARS-CoV-2 mRNA-Impfstoff (BNT162, PF-07302048) 2.6.4 Zusammenfassung Erklärung von der pharmakokinetischen Studie. <https://ia902305.us.archive.org/28/items/pfizer-confidential-translated/pfizer-confidential-translated.pdf> Zugriff am 4. November 2022
57. Impfstoff FAQ, CDC und IDSA. <https://www.idsociety.org/covid-19-real-time-learning-network/vaccines/vaccines-information--faq/> Accessed November 4, 2022

58. Pardi N, Tuyishime S, Muramatsu H, et al. Expression kinetics of nucleoside-modified mRNA delivered in lipid nanoparticles to mice by various routes. *J Control Release* 2015;217:345-351. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.08.007>
59. Cosentino M, Marino F. The spike hypothesis in vaccine- induced adverse effects: questions and answers. *Trends Mol Med* 2022;28(10):797-799. <http://doi.org/10.1016/j.molmed.2022.07.009>
60. Ogata AF, Maley AM, Wu C, et al. Ultra-sensitive serial profiling of SARS-CoV-2 antigens and antibodies in plasma to understand disease progression in COVID-19 patients with severe disease. *Clin Chem* 2020;66(12):1562-1572. <http://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa213>
61. Ogata AF, Cheng CA, Desjardins M, et al. Circulating severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) vaccine antigen detected in the plasma of mRNA-1273 vaccine recipients. *Clin Infect Dis* 2021;74(4):715-718. <http://doi.org/10.1093/cid/ciab465>
62. Cognetti JS, Miller BL. Überwachung von Serum-Spike-Protein mit Einweg photonischen Biosensoren nach SARS- CoV-2-Impfung. *Sensoren* 2021;21(17):5857. <http://doi.org/10.3390/s21175857>
63. Mörz M. Ein Fallbericht: multifokale nekrotisierende Enzephalitis und Myokarditis nach BNT162b2 mRNA- Impfung gegen COVID-19. *Vaccines* 2022;10(10):1651. <http://doi.org/10.3390/vaccines10101651>
64. Pesce E, Manfrini N, Cordiglieri C, et al. Aus dem Plasma von COVID-19-Patienten gewonnene Exosomen setzen von SARS- CoV-2-Spikes abgeleitete Fragmente frei und tragen zur adaptiven Immunantwort bei. *Front Immunol* 2022;12:785941. <http://doi.org/10.3389/fimmu.2021.785941>
65. Trougakos IP, Terpos E, Alexopoulos H, et al. Adverse effects of COVID-19 mRNA vaccines: the spike hypothesis. *Trends Mol Med* 2022;28(7):542-554. <http://doi.org/10.1016/j.molmed.2022.04.007>
66. Bansal S, Perincheri S, Fleming T, et al. Cutting edge: circulating exosomes with COVID spike protein are induced by BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) vaccination prior to development of antibodies: a novel mechanism for immune activation by mRNA vaccines. *J Immunol* 2021;207(10):2405-2410. <http://doi.org/10.4049/jimmunol.2100637>
67. Yamamoto M, Kase M, Sano H, Kamijima R, Sano S. Persistierende Varizella-Zoster-Virus-Infektion nach mRNA- COVID-19-Impfung war mit dem Vorhandensein von kodiertem Spike-Protein in der Läsion verbunden. *J Cutan Immunol Allergy* 2022;00:1-6. <https://doi.org/10.1002/cia2.12278>
68. Najahi-Missaoui W, Arnold RD, Cummings BS. Sichere Nanopartikel: Sind wir schon so weit? *Int J Mol Sci* 2021;22(1):385. <http://doi.org/10.3390/ijms22010385>
69. Roberts M, Mohammed Y, Pastore M, et al. Topical and cutaneous delivery using nanosystems. *J Control Release* 2017;247:86-105. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.12.022>
70. Hou X, Zaks T, Langer R, Dong Y. Lipid-Nanopartikel für mRNA-Transport. *Nat Rev Mater* 2021;6(12):1078-1094. <http://doi.org/10.1038/s41578-021-00358-0>
71. Palmer B, DeLouise L. Nanoparticle-enabled transdermal drug delivery systems for enhanced dose control and tissue targeting. *Molecules* 2016;21(12):1719. <http://doi.org/10.3390/molecules21121719>
72. Hansen S, Lehr CM. Nanopartikel für die transkutane Impfung. *Microb Biotechnol* 2011;5(2):156-167. <http://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00284.x>
73. Klyachko NL, Arzt CJ, Li SM, Gololobova OA, Batrakova EV. Extrazelluläre Vesikel-basierte Therapeutika: präklinische und klinische Untersuchungen. *Pharmaceutics* 2020;12(12):1171. <http://doi.org/10.3390/pharmaceutics12121171>
74. Gu TW, Wang MZ, Niu J, Chu Y, Guo KR, Peng LH. Outer membrane vesicles derived from *E. coli* as novel vehicles for transdermal and tumor targeting delivery. *Nanoscale* 2020;12(36):18965-18977. <http://doi.org/10.1039/DoNR03698F>
75. De Jong B, Barros ER, Hoenderop JGJ, Rigalli JP. Jüngste Fortschritte bei extrazellulären Vesikeln als Arzneimittelabgabesysteme und ihr Potenzial für die Präzisionsmedizin. *Pharmaceutics* 2020;12(11):1006. <http://doi.org/10.3390/pharmaceutics12111006>
76. Dad HA, Gu TW, Zhu AQ, Huang LQ, Peng LH. Pflanzenexosom-ähnliche Nanovesikel: neue Therapeutika und Nanoplattformen für die Arzneimittelverabreichung. *Mol Ther* 2021;29(1):13-31. <http://doi.org/10.1016/j.ymthe.2020.11.030>
77. Jacob S, Nair AB, Shah J, et al. Lipid nanoparticles as a promising drug delivery carrier for topical ocular therapy-an overview on recent advances. *Pharmaceutics* 2022;14(3):533. <http://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030533>
78. Die Dokumente des DEFUSE-PROJEKTS. <https://drasticresearch.org/2021/09/21/the-defuse-project-documents/> Zugriff am 4. November 2022

79. Zhang H, Leal J, Soto MR, Smyth HDC, Ghosh D. Aerosolierbare Lipid-Nanopartikel für die pulmonale Verabreichung von mRNA durch Versuchsplanung. *Pharmaceutics* 2020;12(11):1042. <http://doi.org/10.3390/pharmaceutics1211042>
80. Robinson E, MacDonald KD, Slaughter K, et al. Lipid nanoparticle-delivered chemically modified mRNA restores chloride secretion in cystic fibrosis. *Mol Ther* 2018;26(8):2034- 2046. <http://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.05.014>
81. Alton EFWF, Armstrong DK, Ashby D, et al. Repeated nebulisation of non-viral CFTR gene therapy in patients with cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet Respir* 2015;3(9):684-691. [http://doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00245-3](http://doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00245-3)
82. Chow MYT, Qiu Y, Lam JKW. Inhalative RNA-Therapie: vom Versprechen zur Realität. *Trends Pharmacol Sci* 2020;41(10):715- 729. <http://doi.org/10.1016/j.tips.2020.08.002>
83. Lenn JD, Neil J, Donahue C, et al. RNA aptamer delivery through intact human skin. *J Invest Dermatol* 2018;138(2):282- 290. <http://doi.org/10.1016/j.jid.2017.07.851>
84. Yeo WS, Ng QX. Passive inhalative mRNA-Impfung gegen SARS-Cov-2. *Med Hypotheses* 2021;146:110417. <http://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.110417>
85. Chu M, Wang H, Bian L, et al. Vernebelungstherapie mit aus mesenchymalen Stammzellen der Nabelschnur gewonnenen Exosomen bei COVID-19-Pneumonie. *Stem Cell Rev Rep* 2022;18(6):2152-2163. <http://doi.org/10.1007/s12015-022-10398-w>
86. Sabanovic B, Piva F, Cecati M, Giulietti M. Vielversprechende Impfstoffe auf Basis extrazellulärer Vesikel gegen Viren, einschließlich SARS-CoV-2. *Biologie* 2021;10(2):94. <http://doi.org/10.3390/biology10020094>
87. Kuate S, Cinatl J, Doerr HW, Überla K. Exosomale Impfstoffe
die das S-Protein des SARS-Coronavirus enthalten, lösen hohe Mengen neutralisierender Antikörper aus. *Virology* 2007;362(1):26-37. <http://doi.org/10.1016/j.virol.2006.12.011>
88. Wang Z, Popowski KD, Zhu D, et al. Exosomen, dekoriert mit einer rekombinanten SARS-CoV-2-Rezeptor-Bindungsdomäne als inhalierbarer COVID-19-Impfstoff. *Nat Biomed Eng* 2022;6(7):791-805. <http://doi.org/10.1038/s41551-022-00902-5>
89. Popowski KD, Moatti A, Scull G, et al. Inhalierbare Trockenpulver-mRNA-Impfstoffe auf der Grundlage extrazellulärer Vesikel. *Matter* 2022;5(9):2960-2974. <http://doi.org/10.1016/j.matt.2022.06.012>
90. Kedl RM, Hsieh E, Morrison TE, et al. Beweise für die aerosole Übertragung der SARS-CoV2-spezifischen humoralen Immunität. *medRxiv* <https://doi.org/10.1101/2022.04.28.22274443>
91. Schultz JS, McCarthy MK, Rester C, et al. Entwicklung und
Validierung eines Multiplex-Mikrosphären-Immunoassays unter Verwendung von getrockneten Blutflecken zur Bestimmung der SARS-CoV-2-Seroprävalenz: Anwendung bei Ersthelfern in Colorado, USA. *J Clin Microbiol* 2021;59(6):e00290-21. <http://doi.org/10.1128/JCM.00290-21>
92. Sanofi startet klinische Prüfung des ersten mRNA-basierten Impfstoffkandidaten gegen saisonale Grippe (Sanofi lance l'essai clinique du premier candidat-vaccin à base d'ARNm contre la grippe saisonnière) <https://www.capital.fr/entreprises-marches/sanofi-lance-essai-clinique-du-premier-candidat-vaccin-a-base-darnm-contre-la-grippe-1407163> Zugriff am 4. November 2022
93. Moderna nimmt mRNA-Grippekandidat in Phase-3-Studien auf. <https://www.biopharmareporter.com/Article/2022/06/07/moderna-takes-mrna-influenza-candidate-into-phase-3-trial> Zugriff am 4. November 2022